Journal of Agroecology
Vol. 13, No.1, Spring 2021, p. 73-88

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص ۸۸-۷۳

مقاله علمی- پژوهشی

تأثیر کودهای بیولوژیک، شیمیایی و اسید هیومیک بر برخی پارامترهای میکروبی و عناصر خاک، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria*. L)

پریا بویری ده شیخ[۱]، محمد محمودی سورستانی[۲*]، مریم ذوالفقاری[۳] و نعیمه عنایتی ضمیر[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/ ۰۷/۱۴

بویری ده شیخ، پ.، محمودی سورستانی، م.، ذوالفقاری، م.، و عنایتی ضمیر، ن.، ۱۴۰۰. تأثیر کودهای بیولوژیک، شیمیایی و اسید هیومیک بر برخی پارامترهای میکروبی و عناصر خاک، کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria*. L). بوم‌شناسی کشاورزی ۱۳(۱):۸۸-۷۳.

چکیده

به‌منظور مطالعه اثر کودهای بیولوژیک، شیمیایی و اسید هیومیک بر میزان تنفس و زیست‌توده میکروبی خاک، میزان ماده آلی خاک، میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ و کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک-های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. فاکتور اول تیمارهای کودی در پنج سطح (شاهد، ازتوبارور-۱، فسفات بارور-۲، تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، کود شیمیایی شامل کود اوره به‌میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و ۱۰۰ کیلوگرم کود سوپر فسفات تریپل و فاکتور دوم اسید هیومیک در دو سطح (۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل میزان تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی خاک، ماده آلی خاک، مقادیر نیتروژن و فسفر برگ، تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و میزان، عملکرد و اجزای اسانس بودند. با توجه به نتایج حاصل، بیشترین مقادیر تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی خاک مربوط به تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک و بیشترین میزان ماده آلی خاک نیز مربوط به تیمار کاربرد کود شیمیایی + اسید هیومیک بود. بیشترین میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ، به‌ترتیب در تیمارهای کود شیمیایی و فسفات بارور-۲ به‌دست آمد. تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک بیشترین تعداد کرک‌های ترشحی در سطوح فوقانی و تحتانی برگ را به خود اختصاص داد و بزرگ‌ترین کرک‌های ترشحی در سطح فوقانی و تحتانی برگ نیز در تیمار کود فسفات بارور-۲ مشاهده شد که با تیمارهای تلفیق کودهای بیولوژیک و کود شیمیایی تفاوت معنی‌داری نداشت. حداکثر میزان و عملکرد اسانس به‌ترتیب در تیمارهای فسفات بارور-۲ و تلفیق دو نوع کود بیولوژیک مشاهده شد. ترکیبات اصلی و غالب شناسایی شده در اسانس شامل ایزومرهای نپتالاکتون، کاریوفیلن اکساید، ترانس کاریوفیلن و ای- ای- فارنسین بود و تیمارهای به‌کار رفته سبب تغییر در میزان آن‌ها گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، کاربرد تلفیقی کودهای بیولوژیک تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات به‌جای کودهای شیمیایی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ازتوبارور-۱، فسفات بارور-۲، فسفر، کرک ترشحی، نپتالاکتون، نیتروژن

مقدمه

گیاه دارویی نعناع گربه‌ای معطر با نام علمی *Nepeta cataria* L. گیاهی علفی و چندساله متعلق به خانواده نعناعیان می‌باشد. این گیاه دارای خصوصیات دارویی مانند آرام‌بخش، معرق، مسکن، ضدتشنج و دافع حشرات است و در صنایع مختلفی نظیر داروسازی، آرایشی بهداشتی و ساخت آفت‌کش‌های زیستی کاربرد فراوان دارد (Tucker & Tucker, 1988). اندام‌های رویشی و گل‌های گیاه نعناع گربه‌ای حاوی ۰/۸۹ درصد اسانس می‌باشد که از جمله ترکیبات غالب شناسایی شده در اسانس آن می‌توان به ایزومرهای مختلفی از

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲و ۳- دانشیار و استادیارگروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۴- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: (Email: m.mahmoodi@scu.ac.ir
Doi:10.22067/jag.v13i1.79970

نپتالاکتون مانند ۴- آ- آلفا، ۷- آلفا، ۷- آ- آلفا نپتالاکتون، ۴- آ- آلفا، ۷- آلفا، ۷- آ- بتا نپتالاکتون، بتا کاریوفیلن، کاریوفیلن اکساید و بتا پینن اشاره نمود (Suschke et al., 2006).

بهبود و حاصلخیزی خاک به دلیل تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و کمک به افزایش عملکرد آن از اهمیت ویژه‌ای در کشت‌وکار گیاهان دارویی برخوردار است. اغلب خاک‌ها به‌دلیل کمبود ماده آلی و آب‌شویی زیاد، دچار کمبود برخی عناصر غذایی همچون نیتروژن هستند. بخش اعظمی از عنصر فسفر نیز به‌فرم نامحلول و غیر قابل استفاده برای گیاه (سنگ‌های فسفات) در خاک وجود دارد و این امر سبب شده تا مصرف کودهای شیمیایی جهت فائق آمدن بر مشکلات فوق و تأمین نیازهای گیاه روند رو به افزایشی داشته باشد. افزایش مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی در کشاورزی سبب بروز مشکلات زیست‌محیطی بسیار زیاد در دهه‌های اخیر گردیده است (Sharma, 2002).کشاورزی پایدار بر پایه مصرف کودهای بیولوژیک و آلی با هدف حذف یا تقلیل چشمگیر مصرف کودهای شیمیایی، یک راه حل مطلوب برای غلبه بر این مشکلات به‌شمار می‌آید. کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ حاوی باکتری تثبیت کننده نیتروژن *ازتوباکتر وینلندی* (*Azotobacter vinlandii*) است. این باکتری، همیار با ریشه گیاه و فاقد اندام هم‌زیستی خاص است و نیتروژن موجود در اتمسفر را که به‌طور مستقیم برای گیاهان قابل استفاده نمی‌باشد، احیا کرده و به‌صورت آمونیوم در اختیار گیاه قرار می‌دهد، همچنین این باکتری با ترشح مواد محرک رشد باعث افزایش رشد گیاه گردیده و انرژی مورد نیاز برای این فرآیند را از ترشحات ریشه گیاه دریافت می‌کند. کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ نیز حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات *سودوموناس پوتیدا* (*Pseudomonas putida*) و *پانتوآ آگلومرانس* (*Pantoea agglomerans*) می‌باشد. این باکتری‌ها با مکانیسم‌هایی نظیر تولید و ترشح اسیدهای آلی به‌ویژه اسید اگزالیک و اسید سیتریک، در حلالیت فسفات‌های معدنی کم‌محلول و با تولید آنزیم‌های فسفاتاز در آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی فسفره نقش مهمی ایفا می‌کنند (Amoaghaei & Mostageran, 2008).

اسید هیومیک از جمله انواع مواد آلی می‌باشد که در کشت و تولید گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ماده ضمن اصلاح ساختمان فیزیکی خاک، از طریق کلات کردن عناصر غذایی ضروری گیاه از جمله نیتروژن و آزادسازی عنصر فسفر از کانی‌های کم‌محلول و نامحلول آن، می‌تواند عناصر مورد نیاز گیاه را در اختیار آن قرار دهد (Chen & Ariad, 1990). تاکنون پژوهش‌های متعددی به بررسی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک و یا اسید هیومیک بر میزان جذب عناصر در گیاه پرداخته‌اند. کابلی فرشچی و همکاران (Kaboli Farshchi et al., 2015) در پژوهشی بر روی گیاه دارویی گل راعی (*Hypericum perforatum*) گزارش نمودند که کاربرد اسید هیومیک به‌میزان ۴۰ لیتر در هکتار مقدار عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم را در برگ گل راعی به‌طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین کاربرد کودهای بیولوژیک در گیاه دارویی گل همیشه بهار بر میزان نیتروژن و فسفر موجود در برگ تأثیر معنی‌داری داشته است (Hosseinzadah et al., 2011). در تحقیقی که توسط پورهادی (Pourhadi, 2011) بر روی گیاه دارویی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) صورت گرفت، میزان منتول و منتون موجود در اسانس در پاسخ به کاربرد کودهای بیولوژیک تثبیت‌کننده نیتروژن نیتروکسین و سوپرنیتروپلاس افزایش یافت. در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) نیز کاربرد جداگانه و تلفیقی کودهای بیولوژیک محتوی باکتری‌های *آزوسپیریلیوم* و *سودوموناس* و همچنین *ازتوباکتر* منجر به افزایش تیمول و گاما- ترپینن موجود در اسانس این گیاه گردید (Faraji Mehmani et al., 2015). کاربرد اسید هیومیک با غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر در گیاه دارویی نعناع فلفلی و غلظت ۱/۵ در هزار در گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) سبب افزایش معنی‌دار درصد و عملکرد اسانس آن‌ها گردید (Farahani & Maddani, 2014; Gohary et al., 2014).

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر این دسته از کودها بر میزان شاخص‌های بیولوژیک و ماده آلی خاک، عناصر نیتروژن و فسفر برگ، تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۹۴-۱۳۹۳ اجرا شد. فاکتور اول شامل تیمارهای کودی در پنج سطح (شاهد، ازتوبارور-۱، فسفات بارور-۲، تلفیق دو نوع کود بیولوژیک مذکور، کود شیمیایی) و فاکتور دوم شامل اسید هیومیک در دو سطح (۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار) بود. قبل از کشت گیاه در زمین اصلی، نمونه‌ای مرکب از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک تهیه گردید (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک مزرعه تحقیقاتی (عمق ۳۰ - ۰ سانتی‌متری)
Table1- Physical and chemical characteristics of research farm (0-30 cm).

بافت خاک Soil texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	کربن آلی Organic carbon (%)	نیتروژن کل Total N (%)	فسفر Absorbable P ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم Absorbable K ($mg.kg^{-1}$)	آهن Absorbable Fe ($mg.kg^{-1}$)	مس Absorbable Cu ($mg.kg^{-1}$)	روی Absorbable Zn ($mg.kg^{-1}$)
شنی- لومی Sandy-Loamy	7.2	1.26	0.48	0.03	16.1	216	20.66	3.70	13.06

بذر گیاه از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهیه و در آبان ماه در خزانه کشت و نشاهای حاصل در مرحلـه شـش تـا هشت برگی در اسفندماه به زمین اصلی انتقال داده شدند. زمین اصلی به‌صورت جوی و پشته در قالب واحد آزمایشی ۲ × ۲ متر آماده گردید. کود شیمیایی اوره به‌میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و در دو مرحله (۵۰ درصد در زمان آماده‌سازی زمین و ۵۰ درصد بعد از اسـتقرار نشـاء) و کود سوپر فسفات تریپل به‌میزان ۱۰۰ کیلـوگرم در هکتـار در زمـان آماده‌سازی زمین به‌صورت نواری با فاصله پنج سانتی‌متر از بوتـه بـه کرت‌های مربوط به تیمار کود شیمیایی اعمال شد. کودهای بیولوژیک ازتوبارور-۱ (حاوی باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن) و فسفات بـارور-۲ (حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسـفات) و اسـید هیومیـک از شـرکت زیست‌فناور سبز تهیه گردید. هر بسـته کـودی شـامل 10^8 CFU/g باکتری زنده و فعال بود. کودهای بیولوژیک مذکور در دو مرحلـه (در زمان انتقال نشاها و دو هفته پس از کاشت در زمین اصـلی) اعمـال شدند. در زمان کاشت در زمین اصلی ریشه‌هـای نشـاء بـا کودهـای بیولوژیک ازتوبارور-۱ و فسفات بارور-۲ با نسبت‌های مشخص (۱۰۰ گرم در هکتار) و بر اساس دستورالعمل توصیه شده تلقیح شدند. اسید هیومیک نیز به‌میزان ۲۰ کیلوگرم در هکتار و در دو مرحله (در زمـان کاشت نشاء و دو هفته بعد از استقرار نشاها) اعمال شد. این ترکیب در مرحله اول به‌صورت پودری با فاصله پنج سانتی‌متر از بوته و در مرحله دوم همراه با آب آبیاری در اختیار گیاه قرار گرفت. جهت جلوگیری از اختلاط تیمارها آبیاری به‌صورت سیفونی انجام و علف‌هـای هـرز در طی دوره رشد به‌صورت دستی کنتـرل شـد. صـفات میـزان عناصـر نیتروژن و فسفر برگ در ابتـدای مرحلـه گـل‌دهـی و شـاخص‌هـای بیولوژیکی و ماده آلی خاک و همچنـین تعـداد و انـدازه کـرک‌هـای ترشح‌کننده اسانس و کمیت و کیفیـت اسـانس در مرحلـه تمـام‌گـل اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیـری شـاخص‌هـای بیولـوژیکی خـاک (تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی) نمونه‌بـرداری خـاک در مرحلـه برداشت گیاه، از خاک مرطوب ناحیه اطـراف ریشـه صـورت گرفـت. جهت اندازه‌گیری تنفس میکروبی خاک از روش تیتراسیون برگشتی با سود و کربن زیست‌توده میکروبی خـاک از روش تـدخین- اسـتخراج اسـتفاده گردیـد (Anderson, 2003; Barajas Aceves, 2005). جهت اندازه‌گیری میزان ماده آلی خـاک نیـز نمونـه‌بـرداری از خـاک مرطوب ناحیه اطراف ریشه گیاه انجام و میزان آن بـه‌روش والکـی و بـلاک (Walkly & Black, 1934) انـدازه‌گیـری شـد. بـه‌منظـور اندازه‌گیری میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ، نمونه‌گیری در ابتدای مرحله گل‌دهی، به‌صورت تصادفی و از برگ‌های بـالغ (جفـت بـرگ سوم و چهارم) موجود در هر واحد آزمایشـی صـورت گرفـت. میـزان عنصـر نیتـروژن بـا اسـتفاده از دسـتگاه کجلـدال مـدل Kjeltec Auto1030 Analyser و میـزان عنصـر فسـفر بـا اسـتفاده از روش هضم خشک انـدازه‌گیـری شـد (Johnson & Wilrinson, 1992; Bingham & Bartels, 1996). جهـت ارزیـابی تعـداد و انـدازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس، نمونه‌گیری بـه‌صـورت تصـادفی و از برگ‌های بالغ و توسعه‌یافته جفت سوم و چهارم گیاه انجام و پـس از شست‌وشو و خشک شدن، تا زمان اندازه‌گیری صفات مـورد نظـر در محلول محتوی اتانول ۷۰ درصد، فرمالدهید و اسید استیک (با نسبت ۱۷:۲:۱) تثبیت شدند. پس از آن، تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس سطح فوقانی و تحتانی برگ با استفاده از دسـتگاه بینوکـولار Olympus مدل SZX7 با بزرگ‌نمایی X20 اندازه‌گیری شد. بـدین منظور، ابتدا لایه نازکی از اپیدرم برگ جدا و نمونه‌ای با مساحت یک میلی‌مترمربع تهیه گردید. سپس تعداد کرک‌های ترشحی در مساحت مذکور شمارش و اندازه آن‌هـا بـا اسـتفاده از عدسـی چشـمی مـدرج

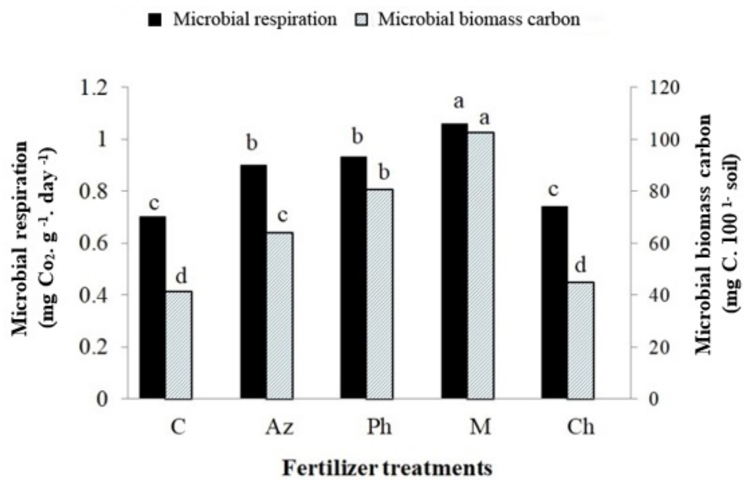
تخمین زده شد. جهت اندازه‌گیری میزان اسانس، گیاهـان در مرحلـه تمام‌گل برداشت و در دمای حدود ۳۰ درجه سانتی‌گراد و سایه خشک گردید. استخراج اسانس به‌روش تقطیر با آب بـا اسـتفاده از دسـتگاه کلونجر و در مدت زمان سه ساعت بر اساس فارماکوپه اروپا انجام شد (Maisonneuve, 1975). درصد اسانس به‌صورت وزنی– وزنـی بـر اساس وزن خشک محاسبه شد. سـپس نمونـه‌هـای اسـانس توسـط سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان انجام آنالیز اجزای آن‌ها در دمـای چهار درجه سانتی‌گراد و تاریکی نگهداری شدند. جهت برآورد عملکرد اسانس برحسب گرم در مترمربع، برگ‌ها و گل‌های گیاهان موجود در مساحت یک مترمربع از هر واحـد آزمایشـی جـدا و تـوزین گردیـد و عملکرد اسانس، از حاصل‌ضرب مقدار اسانس در عملکـرد بیولوژیـک تقسیم بر ۱۰۰ به‌دست آمد. به‌منظور شناسایی و تعیین مقادیر اجـزای اسانس، به‌ترتیب از دسـتگاه‌هـای کرومـاتوگرافی گـازی متصـل بـه طیف‌سنج جرمی (GC-MS) و کرومـاتوگرافی گـازی (GC) اسـتفاده گردید. دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سـنج جرمـی مـورد استفاده از نوع Agilent مـدل ۵۹۷۵، مجهـز بـه سـتون HP-5 ms به‌طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و سرعت جریان گاز حامل هلیوم ۱/۵ میلـی‌لیتـر در دقیقه بود. برنامه دمایی ستون از ۴۰ درجه سـانتی‌گـراد شـروع شـد. دمای ستون به‌مدت یک دقیقه در این دما متوقف و سپس به‌تدریج با سرعت پنج درجه در دقیقه افزایش یافت و پس از گذشت ۱۱ دقیقـه به دمای ۳۰۰ درجـه سـانتی‌گـراد رسـید. دمـای محفظـه تزریـق و آشکارساز به‌ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. شناسایی طیـف ترکیبات اسانس به‌کمـک بانـک اطلاعـات جرمـی، زمـان بـازداری، محاسبه شاخص کواتس، بررسی طیف‌های جرمی هر یـک از اجـزای اسانس و الگوهای شکست آن‌ها، مقایسه با طیـف‌هـای اسـتاندارد و استفاده از منابع معتبر صورت گرفت (Adams, 2007). جهت تعیـین درصد نسبی هر یک از ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، از دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل Varian 3800 مجهز به آشکارساز FID و ستون CP-Sil-CB به‌طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر با ضخامت لایه فاز ساکن۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی مشابه برنامه استفاده شده در کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی بـود. در نهایت، درصد نسبی اجزای اسانس با توجه به سطح زیـر منحنـی پیک‌های هر یک از ترکیبات اسـانس در کرومـاتوگرام GC بـه‌روش نرمال کردن سطح زیر منحنی و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، تعیین شد. داده‌های آزمایش توسط نرم‌افزار SAS نسـخه ۹/۱ آنـالیز شد و جهت مقایسه میانگین آن‌ها از آزمون چند دامنـه‌ای دانکـن در سطح احتمال پنج درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک

بیشترین میزان تنفس میکروبی خاک در تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک (۱/۰۶ میلی‌گرم دی‌اکسید کـربن بـر گـرم خـاک در روز) مشاهده گردید که در قیاس با کاربرد جداگانـه کودهـای بیولوژیـک، تیمار کود شیمیایی و شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بود (شکل ۱). پس از آن، به‌ترتیب تیمارهای فسفات بارور-۲ (۰/۹۳ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز)، ازتوبارور-۱ (۰/۹۰ میلی‌گـرم دی‌اکسـید کربن بر گرم خاک در روز)، کود شیمیایی (۰/۷۴ میلی‌گرم دی‌اکسید کربن بر گرم خاک در روز) و شاهد (۰/۷۰ میلی‌گرم دی‌اکسید کـربن بر گرم خاک در روز) در جایگاه های بعدی قرارداشتند. گرچـه میـزان ایـن صـفت در تیمارهـای ازتوبـارور-۱ و فسـفات بـارور-۲ تفـاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت، امّا اعمال تیمارهای فوق سبب افـزایش قابل توجه تنفس میکروبی خاک در مقایسه با تیمار کود شـیمیایی و شاهد گردید. در ارتباط با میزان کربن زیست‌تـوده میکروبـی خـاک، تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک بیشترین میزان این صـفت (۱۰۲/۶۸ میلی‌گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک) را به خود اختصاص داد که دارای برتری معنی‌داری نسـبت بـه کـاربرد جداگانـه ازتوبـارور-۱ (۶۴/۲۲ میلی‌گـرم کـربن در ۱۰۰ گـرم خـاک) و فسـفات بـارور-۲ (۸۰/۵۵ میلی‌گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک)، کود شیمیایی (۴۵ میلی‌گرم کربن در ۱۰۰ گرم خاک) و شاهد (۴۱/۵۸ میلـی‌گـرم کـربن در ۱۰۰ گـرم خاک) بود (شکل ۱).

صفات تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی از جمله شاخص‌هـای بیولوژیک خاک به‌شمار می‌آیند و بالا بودن این دو شاخص در خـاک دلالت بر استقرار و زنده بـودن میکرواگانیسـم‌هـای آن و فعالیـت و پویایی جامعه میکروبی خاک دارد. با توجه به این امر، چنین به نظـر می‌رسد کـه در تحقیـق حاضـر، بـاکتری‌هـای موجـود در کودهـای بیولوژیک توانسته‌اند به‌خوبی با محیط جدید سازگار شده و با استقرار موفق در آن به تکثیر و فعالیت‌های حیاتی خود ادامه دهند.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای کودی بر میزان تنفس میکروبی و کربن زیست‌توده میکروبی خاک

Fig. 1- Mean comparisons for the effect of fertilizer treatments on the soil microbial respiration and biomass carbon

حروف متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنچ درصد بر اساس آزمون دانکن است.

The bars with different letter are significantly difference at 0.05 probability levels according to Duncan's test.

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی

C: Control, H: Humic acid, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer

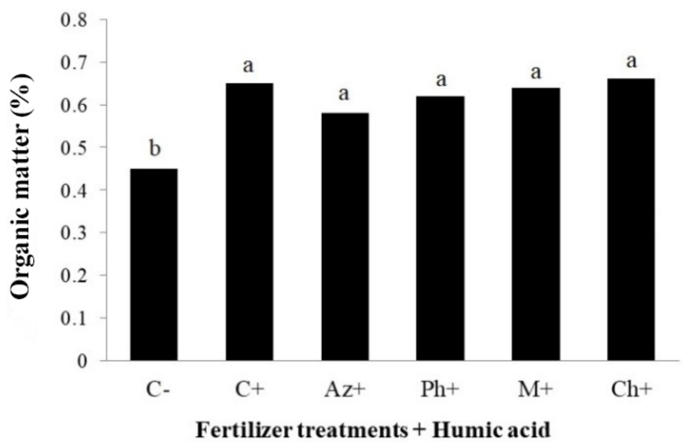
ماده آلی خاک

بررسی مقایسه میانگین صفت فوق حاکی از افـزایش معنـی‌دار میزان این صفت در نتیجه کاربرد همزمان اسید هیومیک و تیمارهای کودی بود و این امر در حالی است که میان تیمارهای فوق اخـتلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). حـداکثر میـزان مـاده آلـی خاک، در کاربرد تیمارهای کود شـیمیایی همـراه بـا اسـید هیومیـک (۰/۶۶ درصد) و اسید هیومیک (۰/۶۵ درصد) به‌دسـت آمـد و شـاهد کمترین میزان ماده آلی خاک (۰/۴۵ درصد) را به خود اختصاص داد. ماده آلی خاک از جمله شاخص‌های مهم خاک محسوب می‌شود کـه میزان بالای آن در خـاک بیـانگر حاصلخیزی آن مـی‌باشـد. اسـید هیومیک در نتیجه تجزیه مواد آلی خاک بـه‌ویـژه بـا منشـأ گیـاهی به‌وجود می‌آید و با توجه به نتایج تحقیق حاضـر، بـه نظـر مـی‌رسـد افزودن این ترکیب به خاک سبب افزایش میزان ماده آلی خاک شـده است. مقایسه میزان ماده آلی خاک در کاربرد توأم اسـید هیومیـک و کودهای بیولوژیک نشان می‌دهد علی‌رغم پایین‌تر بودن میزان صفت فوق در این تیمارها نسبت به تیمار کود شیمیایی، کاربرد همزمان دو عامل فوق سبب افزایش نسبی میزان ماده آلی خـاک در مقایسـه بـا شاهد گردیده است.

از آنجا که ریزجانداران خاک از مواد آلی موجود در خاک به‌عنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند، علت پایین‌تر بودن ماده آلـی خـاک در کاربرد توأم اسید هیومیک و کودهای بیولوژیک و عدم وجود تفـاوت معنی‌دار میان این تیمارهـا نیـز مـی‌توانـد اسـتفاده بخشـی از اسـید هیومیک توسط باکتری‌های موجود در کودهای بیولوژیک بـه‌عنـوان منبع انرژی باشد (Tikhonov et al., 2010).

میزان عناصر نیتروژن و فسفر برگ

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، اعمال تیمارهای کودی سبب افزایش معنی‌دار غلظت عنصر نیتروژن در برگ نسبت به شاهد گردید (جدول ۲). حداکثر میزان این عنصر در نتیجه کاربرد تیمار کود شیمیایی (۳/۱۶ درصد) به‌دست آمد که افزایش آن در قیاس با سـایر تیمارها معنی‌دار بود.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر کاربردی تلفیق تیمارهای کودی و اسید هیومیک بر میزان ماده آلی خاک

Fig. 2- Mean comparisons for the effect of simultaneous application of fertilizer treatments and humic acid on soil organic matter

حروف متفاوت، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری در سطح پنج درصد است

The bars with different letter are significantly difference at 0.05 probability levels according to Duncan's test

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی، (+): کاربرد اسید هیومیک

C: Control, H: Humic acid, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer, (+): Application of humic acid

پس از آن، تلقیح گیاه با کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ (۲/۷۵ درصد)، تلفیق دو نوع کود بیولوژیک (۲/۷۰ درصد) و فسفات بارور-۲ (۲/۴۶) دارای بیشترین میزان نیتروژن برگ بودند و کمترین میزان این عنصر نیز در شاهد (۲/۳۱ درصد) مشاهده شد. بررسی میزان عنصر فسفر برگ در تیمارهای اعمال شده نیز نشان داد گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات (کود بیولوژیک فسفات بارور-۲) دارای بالاترین میزان این عنصر (۰/۵۳ درصد) نسبت به سایر تیمارها بودند، امّا این تیمار تفاوت آماری معنی‌داری با تیمارهای تلفیق کودهای بیولوژیک (۰/۴۹ درصد) و کود شیمیایی (۰/۴۸ درصد) نداشت (جدول ۲). کمترین میزان عنصر مذکور نیز به‌ترتیب در تیمارهای ازتوبارور-۱ (۰/۳۳ درصد) و شاهد (۰/۲۹ درصد) مشاهده شد. در پژوهشی دیگر، بخشنده لریمی و همکاران (Bakhshandeh Larimi et al., 2014) با بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گزارش نمودند کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (*ازتوباکتر و آزوسپیریلیوم*) میزان جذب این عنصر در گیاه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. علاوه‌براین در مطالعه‌ای مشابه که توسط حسین‌زاده و همکاران (Hosseinzadah et al., 2011) با هدف بررسی تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک بر میزان جذب عناصر نیتروژن و فسفر گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) انجام شد، مشخص گردید کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک حاوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (*ازتوباکتر*) و حل‌کننده فسفر (*سودوموناس*) سبب افزایش معنی‌دار حدود ۵۰ درصدی در میزان این عناصر در گیاه گردید. نیتروژن و فسفر از جمله عناصر ضروری و پرمصرف در گیاهان به‌شمار می‌آیند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان چنین نتیجه گرفت کاربرد باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن (*ازتوباکتر وینلندی*) در تحقیق حاضر توانسته است با افزایش تثبیت نیتروژن مولکولی هوا سبب افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه گردد. از سوی دیگر، با توجه به اثر مثبت کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ بر میزان عنصر فسفر در گیاه نعناع گربه‌ای به نظر می‌رسد باکتری‌های حل‌کننده فسفر (*سودوموناس پوتیدا* و *پانتوآ آگلومرانس*) موجود در این کود نیز توانسته‌اند با انحلال فسفات‌های کم‌محلول و نامحلول موجود در خاک، میزان این عنصر در خاک و در نهایت، جذب آن توسط گیاه را به‌طور معنی‌داری افزایش دهند.

تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲)، سطح فوقانی برگ در تیمار تلفیق کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس (۱/۳۰ عدد در هر میلی‌مترمربع) بود. تیمار فوق میزان این صفت را حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش داد. پس از آن، بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطح فوقانی برگ مربوط به تیمارهای کود شیمیایی (۱/۱۶ عدد در میلی‌مترمربع)، ازتوبارور-۱ (۱/۱۴ عدد در میلی‌مترمربع) و فسفات بارور-۲ (۰/۹۹ عدد در میلی‌مترمربع) بود و کمترین میزان آن به شاهد (۰/۸۸ عدد در میلی‌مترمربع) تعلق داشت. بررسی تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطح تحتانی برگ نیز نشان داد تلقیح گیاه با تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، این صفت را به حداکثر میزان خود (۶/۲۶ عدد در میلی‌مترمربع) در مقایسه با سایر تیمارها رساند. پس از تیمار فوق، تیمار کود شیمیایی، کودهای بیولوژیک ازتوبارور-۱ و فسفات بارور-۲ دارای بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطح تحتانی برگ بودند. کمترین میزان صفت فوق در شاهد (۴/۲۱ عدد در میلی‌مترمربع) ثبت گردید.

بزرگ‌ترین کرک‌های ترشح‌کننده اسانس در سطوح فوقانی (۲۰۰/۷۶ میکرومترمربع) و تحتانی برگ (۲۰۶/۵۳ میکرومترمربع) در تیمار فسفات بارور-۲ به‌دست آمد و کوچک‌ترین آن‌ها مربوط به شاهد (۱۷۷/۲۱ و ۱۸۶/۲۷ میکرومترمربع) بود (جدول ۲). صفات فوق در تیمار فسفات بارور-۲ تفاوت معنی‌داری با تیمارهای کود شیمیایی (۱۹۳/۰۸ و ۲۰۴/۳۸ میکرومترمربع) و تلفیق کودهای بیولوژیک (۱۹۴/۸۰ و ۲۰۱/۶۰ میکرومترمربع) نداشت، امّا کاربرد این تیمار سبب افزایش معنی‌دار اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس سطوح فوقانی و تحتانی برگ نسبت به سایر تیمارهای کودی گردید. تاکنون تحقیقی درباره تأثیر کاربرد کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک بر تعداد و اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس نعناع صورت نگرفته است. گیاهان دارویی دارای اندام‌های مختلف جهت تولید و ذخیره متابولیت‌های ثانویه هستند و کرک‌های ترشحی محل تولید و تجمع اسانس در گیاهان اسانس‌دار می‌باشند. عنصر نیتروژن به‌دلیل شرکت در ساختار اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها دارای نقش مهم در فرآیند تقسیم و توسعه سلولی، افزایش رشد رویشی گیاه و سطح برگ و در نهایت، تعداد اندام‌های ترشح‌کننده اسانس می‌باشد. عنصر فسفر نیز علاوه‌بر اینکه در ساختمان مولکول‌های حامل انرژی حضور دارد و سبب تأمین انرژی فرآیندهای حیاتی گیاه همچون تقسیم و توسعه سلول‌های آن می‌گردد، با شرکت در فرآیند فتوسنتز و ساختار پیش‌ماده‌های اسانس در افزایش میزان این متابولیت ثانویه نقش دارد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد احتمالاً کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک توانسته است با تأمین عناصر نیتروژن و فسفر سبب افزایش توان تقسیم سلولی و در نهایت، افزایش تعداد کرک‌های ترشحی (اندام ترشحی) اسانس گردد. همچنین با توجه به اثر مثبت تیمار کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ بر اندازه کرک‌های ترشحی سطح فوقانی و تحتانی برگ می‌توان چنین استدلال نمود که تلقیح گیاه با باکتری‌های حل‌کننده فسفر توانسته است میزان این عنصر در گیاه را با بالا برده و با افزایش فرآیند فتوسنتز و اختصاص آسیمیلات‌های بیشتر به‌سمت مسیر بیوسنتزی ترکیبات اسانس سبب افزایش میزان اسانس و فشار وارده بر دیواره‌های سلولی کرک‌های ترشح‌کننده آن و در نتیجه، افزایش اندازه این اندام‌ها گردد.

میزان و عملکرد اسانس

در بررسی مقایسه میانگین میزان اسانس (جدول ۲) مشاهده می‌شود گیاهان تیمار شده با کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ بیشترین میزان اسانس را تولید کردند، به‌طوری‌که مقدار آن در این تیمار به حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد رسید. پس از تیمار فوق، به‌ترتیب تیمارهای کود شیمیایی (۱/۲۲ درصد)، تلفیق کودهای بیولوژیک (۱/۱۸ درصد) و ازتوبارور-۱ (۱/۱۵ درصد) بیشترین میزان اسانس را به خود اختصاص دادند. نتایج مقایسه میانگین عملکرد اسانس گیاه (جدول ۲) نیز نشان می‌دهد کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک عملکرد اسانس را حدود ۱/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش داد و این صفت را به حداکثر مقدار خود (۲/۱۵ گرم در مترمربع) در میان تیمارهای کودی اعمال شده رساند. اگرچه میان تیمار فوق و شاهد (۱/۴۳ گرم در مترمربع) تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد، امّا عملکرد اسانس در این تیمار اختلاف آماری معنی‌دار با سایر تیمارهای کودی نداشت. پس از تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، به‌ترتیب گیاهان تیمار شده با کود شیمیایی (۲/۰۸ گرم در مترمربع) و کودهای بیولوژیک ازتوبارور-۱ (۱/۸۷ گرم در مترمربع) و فسفات بارور-۲ (۱/۸۷ گرم در مترمربع) دارای بیشترین عملکرد اسانس بودند. طاهرآبادی و همکاران (Taherabadi et al., 2015) نیز در بررسی اثر کاربرد کودهای بیولوژیک بر گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*) به این نتیجه دست یافتند که میزان اسانس در گیاهان تلقیح شده با باکتری‌های حل‌کننده فسفات (*باسیلوس* و *سودوموناس*) بهبود یافت،

به‌طوری‌که میزان این صفت در تیمار مذکور تفاوت معنی‌داری با اعمال کود شیمیایی نداشت. در گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria recutita* L.) نیز کاربرد کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ توانست درصد اسانس این گیاه را در قیاس با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش دهد (Alijani et al., 2012). همچنین فرجی مهمانی و همکاران (Faraji Mehmani et al., 2015) نیز در پژوهشی بر روی گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) گزارش نمودند کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک سبب افزایش ۱/۵ برابری میزان اسانس و بهبود دو برابری عملکرد آن نسبت به شاهد گردید. نتایج پژوهش حاضر با نتایج تحقیقات بر روی گیاهان ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، مرزنجوش (*Majorana hortensis*) و زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) مطابقت دارد (Weisany et al., 2012; Fatma et al., 2008; Rezaee Chianeh et al., 2015). در بررسی تأثیر اسید هیومیک نیز خزائی و همکاران (Khazaie et al., 2011) به این نتیجه دست یافتند که کاربرد این ترکیب اثر معنی‌داری بر میزان اسانس گیاه دارویی زوفا نداشت. گرچه میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل ژن‌هاست، امّا مقدار، غلظت و تجمع آن‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر شرایط محیطی و ادافیکی است. یکی از عوامل تأثیرگذار بر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه، تأمین کافی عناصر غذایی می‌باشد و حاصلخیزی خاک و تغذیه صحیح گیاه نقش عمده‌ای در ارتقاء کمّی و کیفی این ترکیبات دارد. اسانس‌ها ترکیباتی از گروه شیمیایی ترپن‌ها می‌باشند و یا دارای منشأ ترپنی هستند. واحد سازنده اسانس‌ها، ترکیباتی چون ایزوپنتیل پیروفسفات و دی‌متیل آلیل پیروفسفات می‌باشد و عنصر فسفر از اجزای اصلی ساختار آن‌ها محسوب می‌گردد. همچنین ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس، ترکیباتی سنگین و پیچیده‌اند و ساخت آن‌ها مستلزم صرف انرژی و مولکول‌های ATP و NADPH می‌باشد. با توجه به نقش عنصر فسفر در ساختار واحدهای سازنده ترکیبات اسانس و مولکول‌های حامل انرژی ATP و NADPH، تأمین کافی و متعادل این عنصر جهت تشکیل اسانس در این گیاهان، ضروری است (Loomis & Corteau, 1972). با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان چنین استدلال کرد کاربرد کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ توانسته است میزان جذب عنصر فسفر را در گیاه نعناع گربه‌ای بالا برده و تأمین کافی این عنصر با شرکت در ساختار واحدهای سازنده ترکیبات اسانس، سبب افزایش میزان اسانس این گیاه گردیده است. علاوه‌بر میزان اسانس، عملکرد آن در واحد سطح نیز از جمله پارامترهای مهم در تعیین کمیت این متابولیت ثانویه در گیاهان اسانس‌دار می‌باشد. با توجه به اینکه عملکرد اسانس در گیاهان دارویی، حاصل‌ضرب میزان اسانس در عملکرد اندام‌های رویشی گیاه می‌باشد، نقش عناصر پرمصرفی همچون نیتروژن و فسفر در افزایش آن مهم و اساسی است. از آنجا که تحقیقات انجام شده پیشین نشان می‌دهد کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک ازتوبارور- ۱ و فسفات بارور- ۲ سبب افزایش تعداد و سطح برگ و رشد گیاه می‌گردد، به نظر می‌رسد کاربرد تیمار فوق توانسته است از یک‌سو با تأمین نیتروژن سبب بهبود رشد پیکره رویشی گیاه مانند تعداد و سطح برگ و همچنین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس شود و از سوی دیگر، با تأمین عنصر فسفر باعث افزایش پیش‌ماده‌های ترکیبات اسانس، اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس و در نهایت، افزایش میزان اسانس گیاه گردد (Boveiri Dehsheikh et al., 2017; Yoonesy et al., 2014). به این ترتیب، می‌توان چنین نتیجه گرفت کاربرد تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک توانست با تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و نرخ تعرق گیاهان گردد و این امر، در نهایت افزایش رشد اندام‌های رویشی و میزان و عملکرد اسانس را در پی داشته است.

اجزای اسانس

بر اساس نتایج آنالیز کیفی اسانس توسط دستگاه GC/MS، ۱۳ ترکیب در اسانس گیاه نعناع گربه‌ای شناسایی شد. جدول ۳ ترکیبات شناسایی شده اسانس را به‌همراه شاخص کواتس و درصد نسبی آن‌ها در تیمارهای اعمال شده نمایش می‌دهد. ترکیبات غالب اسانس به‌ترتیب شامل ایزومر ۲ نپتالاکتون (۴- آ- بتا، ۷ آلفا، ۷ آلفا بتا- نپتالاکتون)، ایزومر ۱ نپتالاکتون (۴- آ- آلفا، ۷ آلفا، ۷ آلفا بتا- نپتالاکتون)، کاریوفیلن اکساید، ترانس کاریوفیلن و ای- ای- فارنسین بودند که بیش از ۷۰ درصد اجزای اسانس را در گیاهان تیمار شده تشکیل می‌دادند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، مشخص شد اثر ساده کاربرد کودهای بیولوژیک بر میزان ترکیبات ایزومر ۱ و ۲ نپتالاکتون و کاریوفیلن اکساید در سطح احتمال پنج درصد و اثر متقابل اعمال کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک بر میزان ترانس کاریوفیلن و ای- ای- فارنسین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تیمارهای کودی بر برخی صفات آناتومی و بیوشیمیایی گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.)

Table 2- Means comparison for the effect of fertilizer treatments on anatomical and biochemical traits of catnip (*Nepeta cataria* L.)

تیمار Treatment	میزان نیتروژن برگ Leaf nitrogen content (%)	میزان فسفر برگ Leaf phosphorus content (%)	تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسانس Number of essential oil secretory thrichomes ($No.mm^{-2}$)		اندازه کرک‌های ترشح‌کننده اسانس Size of essential oil secretory thrichomes (μm^2)		میزان اسانس Essential oil content (%)	عملکرد اسانس Essential oil yield ($g.m^{-2}$)
			سطح فوقانی برگ Upper surface of leaf	سطح تحتانی برگ Lower surface of leaf	سطح فوقانی برگ Upper surface of leaf	سطح تحتانی برگ Lower surface of leaf		
C	2.31 d*	0.29 b	0.88 c	4.21 c	177.21 c	186.27 c	0.86 b	1.43 b
Az	2.75 b	0.33 b	1.14 b	5.25 b	188.21 b	194.80 b	1.15 a	1.87 a
Ph	2.46 c	0.53 a	0.99 c	4.55 c	200.76 a	206.53 a	1.30 a	1.87 a
M	2.70 b	0.49 a	1.30 a	6.26 a	194.80 ab	201.60 a	1.18 a	2.15 a
Ch	3.16 a	0.48 a	1.16 b	5.92 a	193.08 ab	204.38 a	1.22 a	2.08 a

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی

C: Control, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer.

* میانگین‌های با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with the different letters have significant difference at 0.05 probability level based on Duncan's multiple range test.

کاربرد اسید هیومیک به‌تنهایی اثر معنی‌داری بر اجـزای اسـانس این گیاه نداشته است. در بررسـی مقایسـه میـانگین اجـزای اسـانس مشاهده شد حداکثر میزان ایزومر ۲ نپتالاکتون در نتیجه اعمال کـود شیمیایی (۶۲/۰۳ درصد) به‌دست آمد و این تیمار تفاوت معنـی‌دار بـا تیمارهای تلفیق دو نوع کود بیولوژیک (۶۰/۰۸ درصد)، ازتوبـارور-۱ (۵۹/۹۱ درصد)، و فسفات بارور-۲ (۵۹/۸۵ درصد) نداشت، امّا سـبب افزایش معنی‌دار این ترکیب نسبت به شاهد (۴۷/۳۹ درصـد) گردیـد. همچنین نتایج نشان داد اسانس گیاهان تیمار شده با کود بیولوژیـک ازتوبارور-۱ دارای بیشترین میزان ایزومر ۱ نپتالاکتون (۲۹/۸۵ درصد) بود. تفاوت میزان این ترکیب در تیمار مـذکور در مقایسـه بـا شـاهد (۲۸/۴۹ درصد) و تیمار تلفیق دو نوع کود بیولوژیک (۲۶/۹۵ درصد) از لحاظ آماری معنی‌دار نبود، امّا نسـبت بـه تیمارهـای کـود شـیمیایی (۲۴/۲۱ درصد) و فسفات بارور-۲ (۲۲/۴۹ درصد) اخـتلاف معنـی‌دار نشان داد. کمترین میزان این ترکیب نیز در تیمـار فسـفات بـارور-۲ مشاهده شد (جدول ۴). بررسی میزان ترکیب کـاریوفیلن اکسـاید در تیمارهای اعمال شده، بیانگر آن است که تیمارهای شـاهد، فسـفات بارور-۲ و ازتوبارور-۱ به‌ترتیب با مقادیر ۳/۷۹، ۳/۶۶ و ۳/۰۸ درصد بالاترین میزان ترکیب فوق را به خود اختصاص دادند. کمترین میزان کاریوفیلن اکساید نیز در گیاهان تیمار شده بـا تلفیـق دو نـوع کـود بیولوژیک (۲/۰۱ درصد) و کود شیمیایی (۱/۸۵ درصد) به‌دست آمد و تیمارهای مذکور دارای تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارهای اعمال شـده بودند (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای کودی و اسید هیومیک بر میزان ترکیب ترانس کاریوفیلن نشان داد تیمـار کـاربرد توأم تلفیق دو نوع کود بیولوژیک و اسید هیومیک میزان این ترکیـب را به بالاترین مقدار خود (۴/۰۸ درصد) در قیاس با دیگـر تیمارهـای اعمال شده رساند و پس از آن اسانس گیاهـان تیمـار شـده بـا کـود شیمیایی + اسید هیومیک (۳/۳۴ درصد) و کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ (۳/۲۹ درصد) بیشترین میزان این ترکیـب را دارا بودنـد (جـدول ۵). حداکثر میزان ترکیب ای-ای- فارنسین نیز در تیمار کاربرد همزمـان کود شیمیایی و اسید هیومیک (۱/۸۳ درصد) به‌دست آمد که افزایش آن نسبت به تیمارهای تلفیق دو نوع کود بیولوژیک و اسید هیومیک (۱/۱۲ درصد)، فسفات بارور-۲ (۰/۹۸ درصد) و کود شیمیایی (۰/۸۸ درصد) معنی‌دار بود (جدول ۵). در تحقیقی مشابه بر روی گیاه دارویی نعناع فلفلی، مشخص گردید کاربرد کودهای بیولوژیک سبب افزایش میزان ترکیبات منتول و منتون اسانس این گیاه می شود (Pourhadi, 2011). فرجـی مهمـانی و همکـاران (Faraji Mehmani et al., 2015) نیز در بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر میزان اجزای غالب اسانس گیاه دارویی مرزه نشان دادند که تلقیح گیاه با تلفیق کودهای بیولوژیک تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننـده فسـفات سـبب افـزایش معنی‌دار میزان ترکیب لیمونن و گاما ترپینن اسانس نسبت بـه سـایر تیمارها می گردد، امّا کاربرد این تیمار باعث کاهش ترکیبـاتی چـون تیمول، ترپینن-۴- ال و پی سیمن می شود. گزارش‌هـای انـدکی در زمینه تأثیر اسید هیومیک بر کیفیت و اجزای اسانس گیاهان دارویـی وجود دارد. خلید و همکاران (Khalid et al., 2015) در تحقیقی بـر روی گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare*)، گزارش نمودنـد که کاربرد اسید هیومیک سبب افزایش معنـی‌دار میـزان اسـتراگول و ترانس آنتول اسانس گیاه می‌گردد. تولید اسانس و ترکیبات موجود در آن تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، تنوع فصلی، شرایط اقلیمی، تغذیه گیاه، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و تنش‌های محیطـی قـرار دارد. میـزان عناصر غذایی و تغذیه صحیح گیاه از جمله عوامل اثرگذار بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی می‌باشد. عنصر فسفر به‌واسطه شرکت در ساختار ترکیبات موجود در اسانس و عنصر نیتروژن به‌دلیل حضور در ساختار آنزیم‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی ترکیبات اسانس از اهمیت ویژه‌ای در کمیت و کیفیت اجـزای اسـانس گیاهـان دارویـی برخوردارند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر مشـخص شـد در نتیجـه کاربرد تیمارهای کودی میزان ایزومر ۱ نپتالاکتون کاهش و در مقابل، میزان ایزومر ۲ آن افزایش یافت. بـه ایـن ترتیـب مـی‌تـوان چنـین استدلال کرد، اعمال تیمارهای کودی به‌کار رفته بـه‌ویـژه کودهـای بیولوژیک سبب تبدیل پیش‌ماده مشترک نپتالاکتون به‌سـمت تولیـد ایزومر ۲ و کاهش میزان ایزومر ۱ آن شده است. همچنین نتایج نشان داد، میزان ترکیب ترانس کاریوفیلن در پاسخ به تیمارهای اعمال شده افزایش و در مقابل میزان کاریوفیلن اکساید که فرم اکسید شده ایـن ترکیب است، کاهش یافته است. بنابراین چنـین بـه نظـر مـی‌رسـد، احتمالاً کاربرد تیمارهای کودی مانع از اکسید شدن ترکیـب تـرانس کاریوفیلن و تولید کاریوفیلن اکسـاید شـده اسـت. میـزان ای- ای- فارنسین موجود در اسانس نیز به‌طور مثبـت تحـت تـأثیر تیمارهـای کودی قرار گرفت که می‌تواند گواه اثر مثبت تیمارهای کودی به‌کـار رفته باشد.

جدول ۳- ترکیبات شناسایی شده اسانس گیاه نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.) تحت تیمارهای کودی و اسید هیومیک

Table 3- Identified compounds of Catnip (*Nepeta cataria* L.) essential oil under fertilizer treatments and humic acid

ردیف Row	زمان بازداری Retention time	نام ترکیب Compound name	شاخص کواتس Kovats index	C-	C+	Az-	Az+	Ph-	Ph+	M-	M+	Ch-	Ch+
1	7.99	آلفا- پینن α-Pinene	942	0.12	0.11	0.17	0.10	0.07	0.09	-	0.09	-	-
2	9.22	بتا- پینن β-Pinene	977	0.86	1.09	1.48	0.56	1.01	1.01	0.89	0.92	0.88	0.76
3	11	سیس- اُسیمن *cis*-Ocimene	1035	0.10	0.07	0.10	0.12	0.11	0.08	0.15	0.06	0.13	-
4	15.65	متیل سالیسیلات Methyl salicylate	1191	0.45	0.43	0.73	0.30	0.42	0.45	0.25	0.24	0.31	0.48
5	20.49	۴-آ- آلفا، ۷ آلفا، ۷ آلفا بتا- نپتالاکتون (ایزومر ۱) 4-a-α, 7α, 7αβ- Nepetalactone (Isomer 1)	1357	29.81	27.19	26.05	33.66	23.92	21.06	27.56	26.35	27.64	20.80
6	21.40	۴ -آ- بتا، ۷ آلفا، ۷ آلفا بتا- نپتالاکتون (ایزومر ۲) 4-a-β, 7α, 7αβ- Nepetalactone (Isomer 2)	1400	38.18	56.61	61.56	58.26	64.09	55.63	60.33	59.83	64.82	59.24
7	21.87	ترانس کاریوفیلن *trans*- Caryophyllene	1424	1.94	1.27	3.30	1.21	1.94	1.27	1.72	4.08	1.61	3.34
8	22.67	آلفا- هومولن α-Humulene	1457	0.31	0.42	0.15	0.21	0.27	0.15	0.20	0.20	0.13	0.33
9	23.41	بتا- یونون β-Ionone	1488	0.28	0.13	0.10	0.12	0.11	0.23	0.07	0.19	0.22	0.13
10	23.90	ای- ای- فارنسین (E,E) -Farnesene	1508	1.39	1.19	1.21	1.45	0.98	1.65	1.71	1.12	0.88	1.83
11	25.8	کاریوفیلن اکساید Caryophyllene oxide	1586	2.89	4.69	2.77	3.40	3.53	3.79	2.51	1.53	2.14	1.57
12	26.18	بتا- یودسمن β-Eudesmane	1602	0.20	0.21	0.21	0.17	0.18	0.09	0.15	0.11	0.09	0.21
13	43.70	دی ایزو اکتیل فتالات Diisooctyl phthalate	1640	0.23	0.46	1.45	0.39	0.50	0.12	0.40	0.83	0.42	1.19
		کل Total		76.76	93.87	99.28	99.95	97.13	85.62	95.94	95.55	99.27	89.88

C: شاهد، H: اسید هیومیک، Az: ازتوبارور- ۱، Ph: فسفات بارور- ۲، M: تلفیق دو کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی، (+): کاربرد اسید هیومیک، (-): عدم کاربرد اسید هیومیک. مقادیر پر رنگ، ترکیبات اصلی اسانس هستند.

C: Control, H: Humic acid, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer, (+): Application of humic acid, (-): without application of humic acid.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر ساده تیمارهای کودی بر ترکیبات اصلی اسانس اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.)

Table 4- Means comparison of the simple effect of fertilizer treatments on main oil components of catnip (*Nepeta cataria* L.) oil

تیمار Treatment	٤-اَ- آلفا، ۷ آلفا، ۷ آلفا بتا- نپتالاکتون (ایزومر ۱) 4-a-α, 7α, 7αβ- Nepetalactone (Isomer 1)	٤ -اَ- بتا، ۷ آلفا، ۷ آلفا بتا- نپتالاکتون (ایزومر ۲) 4-a-β, 7α, 7αβ- Nepetalactone (Isomer 2)	کاریوفیلن اکساید Caryophyllene oxide
C	28.49 ab*	47.39 b	3.79 a
Az	29.85 a	59.91 a	3.08 a
Ph	22.49 c	59.85 a	3.66 a
M	26.95 ab	60.08 a	2.01 b
Ch	24.21 bc	62.03 a	1.85 b

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی

C: Control, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer.

* میانگین‌های با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with the different letters have significant difference at 0.05 probability level based on Duncan's multiple range test.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای کودی و اسید هیومیک بر ترکیبات اصلی اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای (*Nepeta cataria* L.)

Table 5- Means comparison of the interaction effect of fertilizer treatments and humic acid on main oil components of catnip (*Nepeta cataria* L.) oil

تیمار Treatment	ترانس کاریوفیلن trans- Caryophyllene	ای- ای- فارنسین (E,E)- Farnesene
C-	1.94 b*	1.39 abc
C+	1.27 b	1.19 abc
Az-	3.29 a	1.21 abc
Az+	1.20 b	1.45 abc
Ph-	1.94 b	0.98 c
Ph+	1.27 b	1.65 ab
M-	1.71 b	1.71 ab
M+	4.08 a	1.12 bc
Ch-	1.61 b	0.88 c
Ch+	3.34 a	1.83 a

C: شاهد، Az: ازتوبارور-۱، Ph: فسفات بارور-۲، M: تلفیق دو نوع کود بیولوژیک، Ch: کود شیمیایی، (+) : کاربرد اسید هیومیک، (-) : عدم کاربرد اسید هیومیک.

C: Control, Az: Azetobarvar-1, Ph: Phosphatbarvar-2, M: Combination of biofertilizers, Ch: Chemical fertilizer, (+): Application of humic acid, (-): without application of humic acid.

* میانگین‌های با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشند.

* Means with the different letters have significant difference at 0.05 probability level based on Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر کاربرد تلفیق کودهای بیولوژیک سبب افـزایش میزان تنفس و کربن‌زیست‌توده میکروبی خـاک گردیـد کـه احتمـالاً نشان‌دهنده زنده‌مانی، استقرار و فعالیت ایـن بـاکتری‌هـا در خـاک و به‌دنبال آن افزایش جامعه میکروبی خاک می‌باشد. همچنـین کـاربرد کودهای بیولوژیک سبب کاهش میزان ماده آلی خاک گردید کـه بـا توجه به افزایش تنفس و کربن زیست‌توده میکروبی خـاک بـه نظـر می‌رسد این امر احتمالاً به‌دلیل تغذیـه بـاکتری‌هـای خـاک از اسـید هیومیک اعمال شده باشد. میزان نیتروژن گیاه در پاسخ به کاربردکود بیولوژیک حاوی باکتری تثبیت‌کننده نیتـروژن (*ازتوبـاکتر وینلنـدی*) افزایش یافت که ممکن است به‌دلیل افزایش تثبیت نیتروژن مولکولی هوا و در نتیجه، افزایش جذب نیتروژن توسـط گیـاه باشـد. افـزایش میزان فسفر گیاه به‌دنبال کـاربرد بـاکتری‌هـای حـل‌کننـده فسـفات (*سودوموناس پوتیدا* و *پانتوآ آگلومرانس*) نشـان داد ایـن بـاکتری‌هـا توانستند احتمالاً از طریق انحلال فسفات‌های کم‌محلول و نـامحلول موجود در خاک، میزان این عنصر را در محلول خاک بالا برده و جذب آن را توسط گیاه افزایش دهند. گیاهان تیمار شده با تلفیق کودهـای بیولوژیک دارای بیشترین تعداد کرک‌های ترشح‌کننده اسـانس بودنـد که به نظر می‌رسد در نتیجه تأثیر باکتری‌های اعمال شده بر میـزان جذب عناصر نیتروژن و فسفر و احتمالاً افزایش تقسیم و بزرگ شدن سلولی در کرک‌های ترشحی باشد. انـدازه کـرک‌هـای ترشـح‌کننـده اسانس در پی کاربرد کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ افزایش یافت که این امر احتمالاً به‌دلیل افزایش میزان جذب عنصر فسفر توسط گیاه و

تولید فرآورده‌های فتوسنتزی و تخصیص بیشتر این ترکیبات به‌سمت تولید اسانس، افزایش فشار وارد شده به دیواره سلولی این کرک‌ها و اندازه آن‌ها است. به‌کارگیری کود بیولوژیک فسفات بارور-۲ سبب افزایش میزان اسانس گیاه و تلفیق آن با کود بیولوژیک ازتوبارور-۱ موجب بهبود عملکرد اسانس گردید. به نظر می‌رسد افزایش جذب فسفر سبب تولید بیشتر پیش‌ماده‌های اسانس و میزان این متابولیت ثانویه در گیاه شده است. عملکرد اسانس نیز به‌دنبال افزایش رشد و توسعه بیشتر اندام‌های رویشی و همچنین تعداد و اندازه کرک‌های ترشحی در واحد سطح بهبود یافت. تیمارهای کودی مورد استفاده در این پژوهش به‌ویژه کودهای بیولوژیک سبب تغییر مسیر پیش‌ماده سنتز نپتالاکتون اسانس به‌سمت تولید ایزومر ۲ آن، کاهش اکسیداسیون ترانس کاریوفیلن و افزایش میزان این ترکیب به‌همراه ای-ای- فارنسین در اسانس گردید. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان چنین نتیجه گرفت کاربرد کودهای بیولوژیک محتوی باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات می‌توانند به جذب بیشتر عناصر غذایی ضروری مانند نیتروژن و فسفر و به‌دنبال آن بهبود تعداد و اندازه کرک‌های ترشحی و میزان، عملکرد و اجزای اسانس گیاه دارویی نعناع گربه‌ای کمک نماید. بنابراین پیشنهاد می‌گردد که این آزمایش در مقیاس بزرگ‌تر و برای مدت طولانی‌تر مورد بررسی قرار گیرد تا در صورت موفقیت‌آمیز بودن جهت کاربرد تجاری کودهای مذکور توصیه‌های لازم به عمل آید. با توجه به عدم تأثیر معنی‌دار اسید هیومیک در اغلب صفات مورد بررسی در این پژوهش به نظر می‌رسد کاربرد آن در کشت‌وکار گیاهان دارویی نیازمند بررسی‌های بیشتر است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز (گرنت: SCU.Ah98.775) و شرکت زیست‌فناور سبز به جهت حمایت‌های مالی از طرح و تأمین کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

Adams, R.P., 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Fourth ed. Allured Publishing Corporation, Illiois.

Alijani, M., Amini Dehgji, M., Malboei, M.A., Zahedi, M., and Modarres Sanavi, S.A.M., 2012. Effect of phosphorus fertilizer combined with organic fertilizer, phosphate barvar-2 on yield, oil content, and chamazulene Chamomile German (*Matricaria recutita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27: 450-459. (In Persian with English Summary)

Amoaghaei, R., and Mostageran, A., 2008. Plant-bacteria symbiosis assistance systems. Isfahan University, Iran. (In Persian).

Anderson, T.H., 2003. Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. Agriculture, Ecosystems and Environment 98: 285-293.

Bakhshandeh Larimi, S., Shakiba, M.R., Dabbagh Mohammadinasab, A., and Moghaddam Vahed, M., 2014. Changes in nitrogen and chlorophyll density and leaf area of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) affected by biofertilizer and nitrogen application. International Journal of Biosciences 9: 256-265.

Barajas Aceves, M., 2005. Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soil. Journal Bioresource Technology 96: 1405-1414.

Bingham, F.T., and Bartels, J.M., 1996. Methods of Soil Analysis. Vol. 1, Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA. pp. 752-758.

Boveiri Dehsheikh, P., Mahmoodi Sourestani, M., Enayatizami, N., and Zolfaghari, M., 2017. The study on the effect of biological and chemical fertilizers and humic acid on the growth, physiological characteristics, and essential oil content of catnip (*Nepeta cataria* L.). Journal of Plant Production Research 24: 61-76.

Chen, Y., and Ariad, T., 1990. Effects of humic substances in plant growth. Soil Science Society of America, pp. 161-186.

Faraji Mehmani, A., Esmaeilpour, B., Sefidkon, F., Abbaszadeh, B., Khavazi, K., and Ghanbari, A., 2015. Effects of biofertilizers on growth criteria, quantitative and qualitative yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Journal of Agroecology 6: 870-879. (In Persian with English Summary)

Farahani, A., and Maddani, H., 2014. Evaluate the usefulness of humic acid organic matter in comparison to chemical fertilizer and manure and their combination in summer savory (*Satureja hortensis* L.). New Finding in Agriculture 8: 323-337. (In Persian with English Summary)

Fatma, A.G., Lobna, A.M., and Osman, N.M., 2008. Effect of compost and biofertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) Plant. International Journal of Agriculture and Biology 10: 381–387.

Gohary, A.E.E., Sherbeny, S.E.E. and Ghazal, G.M.E.M., 2014. Evaluation of essential oil and monoterpenes of peppermint (*Mentha piperita* L.) under humic acid with foliar nutrition. Journal of Materials and Environmental Science 5: 1885-1890.

Hosseinzadah, F., Satei, A., and Ramezanpour, M.R., 2011. Effects of mycorhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in *Calendula officinalis* L. Middle-East Journal of Scientific Research 8: 947-953.

Johnson, J.W., and Wilrinson, R.E., 1992. Wheat growth response of cultivars to H^+ concentration. Plant and Soil 146: 55-59.

Kaboli Farshchi, H., Azizi, M., Nemeti, H., and Roshan-Sourestani,V., 2015. Effect of potassium sulphate and humic acid on growth, yield, and essential oil content in *Hypericum perforatum* L. Journal of Horticultural Science 29: 518-527. (In Persian with English Summary)

Khalid, K.A., Omer, E.A., El Gendy, A.G., and Hussein, M.S., 2015. Impact of organic compost and humic acid on essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* var. Dulce) under sandy soil conditions in Egypt. World Journal of Pharmaceutical Sciences 3: 160-166.

Khazaie, H.R., Eyshi Rezaie, E., and Eyshi Rezaie, M., 2011. Application times and concentration of humic acid impact on aboveground biomass and oil production of hyssop (*Hyssopus officinalis*). Journal of Medicinal Plants Research 5: 5148-5154.

Loomis, W.D., and Corteau, R., 1972. Essential oil biosynthesis. Recent Advances in Phytochemistry 6: 147-185.

Maisonneuve, S.A., 1975. European Pharmacopoeia. Sainte-Ruffine.

Pourhadi, M., 2011. Effect of biofertilizers on yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Herbal Drugs 2: 137-148. (In Persian with English Summary)

Rezaee Chianeh, I., Pirzad, A., and Fargami, A., 2015. The effect of bacteria suppliers nitrogen, phosphorus and sulfur on seed yield and essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Agricultural Science and Sustainable Production 24: 71-83. (In Persian with English Summary)

Sharma, A.K., 2002. Biofertilizers for sustainable agriculture. Agrobios, India.

Suschke, U., Geiss. H.K., and Reichling, J., 2006. Antibacterial activity of the essential oils of catnip (*Nepeta cataria* L.) and lemon balm (*Melissa officinalis* L.) against clinical isolates from the respiratory tract. Planta Medica 72(11): 27.

Taherabadi, S., Neemati, N.B., Pazoki, A., and Naderi Boroujerdi, G., 2015. Application of biological fertilizer to reducing the need for chemical fertilizers in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.**).** Agronomic Research in Semi Desert Regions 11: 107-116**.** (In Persian with English Summary)

Tikhonov, V.V., Yakushev A.V., Zavgorodnyaya, Y.A., Byzov, B.A., and Demin, V.V., 2010. Effects of humic acids on the growth of bacteria. Eurasia Soil Science 43: 305-313.

Tucker, A.O., and Tucker. S.S., 1988. Catnip and the catnip response. Economic Botany 42: 214-231.

Walkly, A., and Black, I.A., 1934. An examination of the degtjare of method for determination soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.

Weisany, V., Rahimzadeh, S., Sohrabi, Y., 2012. Effect of biofertilizers on morphological, physiological characteristic and essential oil content in basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28: 73-87.

Yoonesy, A.R., Sadeghian Motahar, S.Y., Sajedi, N.A., and Naderi Boroujerdi, G.R., 2014. Effects of biological and chemical fertilizers (nitrogen and phosphorus) on yield and oil content of peppermint plant under the climatically conditions of Arak. New Finding in Agriculture 8: 275-290. (In Persian with English Summary)

Journal of Agroecology
Vol. 13, No.1, Spring 2021, p. 73-88

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، ص ۸۸-۷۳

The Effects of Biological, Chemical Fertilizers and Humic Acid on some Microbial Parameters, Elements and Oil Quantity and Quality of Catnip (*Nepeta cataria* L.)

P. Boveiri Dehsheikh[1], M. Mahmoodi Sourestani*[2], M. Zolfaghari[3] and N. Enayati Zamir[4]
Submitted: 08-04-2019
Accepted: 06-10-2019

Boveiri Dehsheikh, P., Mahmoodi Sourestani, M., Zolfaghari, M., and Enayati Zamir, N., 2021. The effects of biological, chemical fertilizers and humic acid on some microbial parameters, elements and oil quantity and quality of Catnip (*Nepeta cataria* L.). Journal of Agroecology 13(1):73-88.

Introduction

Catnip (*Nepeta cataria* L.) is one of the most important medicinal plants belonged to the Lamiaceae family that referred to considerable pharmacological, antimicrobial, antibacterial and pesticides activities of its essential oil in most of the literatures. The harmful effects of chemical fertilizers on the environment and human health and lack of soil organic matter in arid and semi-arid regions have resulted in an increase in the use of chemical fertilizers in these areas. Excessive use of these fertilizers has led to serious environmental pollutions during the last decades. With respect to the hazards of chemical fertilizers and the importance of medicinal plants, researchers have recently considered the application of biofertilizers and organic materials. According to literatures, the application of biofertilizers and organic fertilizers can be recommended as a proper alternation for the improvement of the quantity and quality of essential oil in Catnip.

Material and Methods

This research was conducted as factorial layout based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications at the research farm of the faculty of agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. The first factor was included fertilizer treatments in five levels (Control (C), Azetobarvar-1 (Az), Phosphatbarvar-2 (Ph), Combination of Az and Ph (M), chemical fertilizer (Ch) included 150 $kg.ha^{-1}$ granular urea (46% N) and 100 $kg.ha^{-1}$ triple superphosphate (46% P_2O_5)) and the second factor was comprised humic acid in two levels (0 and 20 $kg.ha^{-1}$). The studied traits in this research included soil microbial respiration and biomass carbon and soil organic matter contents, leaf nitrogen and phosphorus amounts, number and size of secretory trichomes, essential oil content, yield and composition. Leaf nitrogen and phosphorus concentrations were measured at the beginning of reproductive stage by Kjeldahl method and colorimetric method using a UV-2100-Unico spectrophotometer, respectively. Moreover, the soil microbial respiration and soil biomass carbon were determined by alkali absorption and the fumigated extraction, respectively, and soil organic matter was estimated by the modified Walkly and Black's methods. Furthermore, the number and size of secretory trichomes was registered using Binocular microscope and essential oil was extracted by Clevenger-type apparatus and analyzed using GC and GC-MS at full bloom stage.

Results and Discussion

According to the results, the sole application of fertilizer treatment was positively affected on soil microbial respiration and biomass carbon, leaf nitrogen and phosphorus contents. The number and size of secretory trichomes,

1- M.Sc. Graduated of Medicinal Plants, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2,3- Associate and Assistant Professors, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4- Associate Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
(Corresponding Author Email: m.mahmoodi@scu.ac.ir)
Doi:10.22067/jag.v13i1.79970

essential oil content and yield and essential oil composition were significantly influenced when fertilizer treatments and humic acid were applied simultaneously. The highest amount of soil microbial respiration as well as biomass carbon was detected in M and the lowest was observed in control. The application of Ch and humic acid was significantly improved the soil organic matter. However, no significant difference was found between these treatments and biofertilizers treatments. The lowest amount of soil organic matter was detected in control. The maximum content of leaf nitrogen element was observed in plant treated by Ch and minimum was registered in control. The highest level of leaf phosphorus element, the size of secretory trichomes and essential oil content were obtained when Ph was applied while there was no significant difference between this biofertilizer and Ch and M. The maximum number of secretory trichomes and essential oil yield was detected in plant treated with M. The most amounts of isomers 1 and 2 of nepetalactone and caryophyllene oxide was observed in Az, Ch and control, respectively, and least was in control, Ph and Ch, respectively. The highest level of trans- caryophyllene and (E,E)–Farnesene was obtained in the oil of plant treated with M+ and Ch+ and lowest detected in Az+ and Ch-.

Conclusion

According to the results, to improve the quantity and quality of Catnip essential oil, the application of biological fertilizers instead of chemical fertilizers is recommended and further research is also required to investigate both the effects of applying humic acid alone and in combination with biofertilizers on some traits.

Keywords: Azetobarvar-1, Nepetalactone, Nitrogen, Phosphorus, Phosphatbarvar-2, Secretory trichome